Ref 8/A

ORGANISATION EUROPÉENNE ET MÉDITERRANÉENNE
POUR LA PROTECTION DES PLANTES

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN
PLANT PROTECTION ORGANISATION

★

# *RAPPORT*

## *du Groupe de travail sur l'analyse des résidus de pesticides*

(Paris, 29-30 septembre 1960)

# *REPORT*

## *of the Working Party on Pesticide Residue Analysis*

Mars 1961
PARIS
142, avenue des Champs-Élysées

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
18 MAY 1961

# RAPPORT

***du Groupe de travail sur l'analyse des résidus de pesticides***

(Paris, 29-30 septembre 1960)

# REPORT

***of the Working Party on Pesticide Residue Analysis***

---

*La publication du présent rapport a été approuvée par le Comité exécutif de l'Organisation (février 1961).*

*Publication of this report has been approved by the Executive Committee of the Organisation (February 1961).*

ORGANISATION EUROPÉENNE ET MÉDITERRANÉENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANISATION

PARIS

# Groupe de travail sur l'analyse des résidus de pesticides
# Working Party on Pesticide Residue Analysis

(Paris, 29-30 septembre 1960)

## MEMBRES — MEMBERS

| | | |
|---|---|---|
| Mmes | M. E. ALESSANDRINI | *Institut supérieur de la santé,* Rome (Italie). |
| | S. VAN DEN BRUEL-DORMAL | *Centre national de recherches de phytopharmacie,* Gembloux (Belgique). |
| MM. | H. J. HARDON | *Service de la répression des fraudes,* Amsterdam (Pays-Bas). |
| | D. LIHNELL | *Institut d'État pour la protection des végétaux,* Solna (Suède). |
| | E. J. MILLER | *Laboratoire phytopathologique du Ministère de l'agriculture,* Harpenden (Angleterre). |
| | P. V. SASONOV | *Laboratoire de chimie phytosanitaire de l'Institut pour la protection des végétaux,* Léningrad (URSS). |
| | J. TREBOUX | *Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA).* |
| | R. TRUHAUT | *Laboratoire de toxicologie de la Faculté de pharmacie,* Paris (France). |
| | E. E. TURTLE | *Laboratoire de lutte contre l'infestation du Ministère de l'agriculture,* Tolworth (Angleterre). |
| | G. VIEL | *Laboratoire de phytopharmacie de l'Institut national de la recherche agronomique,* Versailles (France). |
| | H. ZEUMER | *Institut fédéral de biologie agricole,* Braunschweig (Allemagne occidentale). |

OEPP :

| | | |
|---|---|---|
| MM. | I. GRANHALL | *Directeur général, Président du Groupe de travail.* |
| | L. W. D. CAUDRI | *Directeur scientifique.* |

# TABLE


Page

*MEMBRES DU GROUPE DE TRAVAIL* ..... 2

*RAPPORT DU GROUPE DE TRAVAIL ET RECOMMANDATIONS* ..... 4

*ÉVALUATION DES PETITES QUANTITÉS DE D.D.T. DANS LA FARINE ET AUTRES DENRÉES ALIMENTAIRES (Rapport du Comité britannique du DDT)* ..... 12


# CONTENTS


*MEMBERS OF THE WORKING PARTY* ..... 2

*REPORT OF THE WORKING PARTY AND RECOMMENDATIONS* ..... 5

*THE DETERMINATION OF SMALL AMOUNTS OF D.D.T. IN FLOUR AND OTHER FOODSTUFFS (Report of the British DDT Panel)* .... 13

# ORGANISATION EUROPÉENNE ET MÉDITERRANÉENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES

## Groupe de travail sur l'analyse des résidus de pesticides

(Paris, 29-30 septembre 1960)

# RAPPORT

*A MONSIEUR LE PRÉSIDENT DU COMITÉ EXÉCUTIF*

MONSIEUR LE PRÉSIDENT,

1. L'utilisation à grande échelle des produits chimiques pesticides aux fins de protection des produits alimentaires agricoles, tant sur pied qu'en magasin, a suscité certains problèmes concernant les résidus toxiques contenus dans les aliments de l'homme et du bétail. Non seulement les services de la protection des végétaux, mais aussi les autorités de la santé publique, des services vétérinaires et de la protection de la nature, ainsi que l'industrie chimique, examinent attentivement la question et dans maints pays, des mesures ont été ou sont actuellement prises pour réduire, par des règlements ou autres mesures, les risques courus par le consommateur. La nécessité de lutter efficacement contre les ennemis et maladies des plantes pour maintenir rendement et qualité dans la production des denrées alimentaires rend le problème des résidus fondamental également pour les producteurs. Toutes les précautions doivent être prises pour réduire autant que possible les risques présentés par les insecticides, les fongicides et les herbicides. Les recherches sur les risques réels présentés par différentes substances chimiques appliquées sur les cultures dans différentes conditions doivent constituer la base de cette étude.

2. Le Groupe de travail de l'OEPP pour l'étude du rôle des pesticides, qui s'est réuni à Vienne vers la fin de l'année 1959, a examiné les aspects généraux de ces problèmes, et se référant à la difficulté de faire observer des règlements imposant des " tolérances applicables aux résidus toxiques " pour les différentes catégories de produits alimentaires, en l'absence de méthodes analytiques internationalement reconnues, a déclaré :

> *Nous réaliserions en effet un grand progrès en demandant à un nombre restreint de laboratoires de recherches, choisis dans quelques pays, de se mettre d'accord sur des procédés rapides d'analyse, répondant aux besoins courants des chimistes-experts et des autres agents chargés des contrôles toxicologiques officiels. L'OEPP nous semble tout désignée pour entreprendre une telle tâche de normalisation.*

Le Comité exécutif de l'OEPP, conscient de l'importance de la question du point de vue phytosanitaire, a accepté cette recommandation, et nous avons été réunis en Groupe de travail pour lui donner effet.

# EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANISATION

## Working Party on Pesticide Residue Analysis

(Paris, September 29-30, 1960)

# REPORT

*TO THE CHAIRMAN OF THE EXECUTIVE COMMITTEE*

SIR,

1. The wide application of chemical pesticides for the protection of food crops, both growing and in store, against pests and diseases, has given rise to certain problems of toxic residues in human and animal food. Great attention is being given to the subject not only by plant protection services, but by public health, veterinary and wildlife protection authorities, and by the chemical industry, and in many countries steps have been or are being taken to reduce the risks to consumers by legislation or other means. Because of the necessity for effective control of plant pests and diseases if yield and quality are to be maintained in the production of foodstuffs, the problem of toxic residues is of paramount importance also for the producers. All precautions must be taken to reduce to a minimum the risks from insecticides, fungicides and herbicides. Research into the actual hazards occasioned by different chemicals when applied to crops under different conditions must form the basis for this development.

2. The EPPO Working Party on Crop Production Pesticides, which met in Vienna towards the end of 1959, discussed the general aspects of these problems and, referring to the difficulty of enforcing legislation imposing " toxic residue tolerances " for various classes of foodstuffs owing to the lack of internationally recognised analytical methods, stated that

> *it would be a great step forward if uniform and speedy methods of residue analysis were made available through the collaborative work of a few national research laboratories, so that they could be used by public analysts and others for routine enforcement purposes, and this is a task which EPPO might well take in hand.*

Your Committee, having regard to the importance of the matter from the standpoint of plant protection, accepted this recommendation, and our appointment as a Working Party was intended to give effect to it.

3. Notre mandat était le suivant :

> Étudier et présenter des propositions en vue de promouvoir une collaboration internationale dans la mise au point de méthodes d'analyse acceptables pour la détection et l'évaluation des résidus de pesticides contenus dans les fruits, les légumes et les denrées stockées.

4. Un travail préliminaire important avait déjà été fait sur cette question par l'Union de l'Europe occidentale par l'intermédiaire de son Groupe de travail sur l'emploi des substances toxiques en agriculture (intégré depuis au Conseil de l'Europe); les résultats de ces études nous ont été communiqués. Nous suivons également les activités de l'OMS et de la FAO, et de l'Union internationale de chimie pure et appliquée, qui toutes ont apporté leur participation à l'examen du problème. Néanmoins, aucune tentative concertée visant à élaborer des procédés d'analyse acceptables pour tous les pays, rapides et reproductibles, n'a encore été faite ; et tant qu'on ne disposera pas de tels procédés, on ne saurait avoir la certitude d'offrir aussi bien aux consommateurs qu'aux services phytosanitaires et à l'industrie chimique des solutions loyales et équitables aux problèmes posés par l'emploi des pesticides pour lutter contre les ennemis des récoltes et des denrées.

5. La question est complexe, il est vrai. Le Groupe de travail a examiné de manière approfondie un grand nombre des problèmes qui se posent. Pour éviter d'alourdir le présent rapport préliminaire par de trop nombreuses considérations techniques, nous nous bornerons à résumer les principaux points à retenir en recherchant une méthode analytique capable de donner des résultats sûrs et uniformes aux différents chercheurs qui y auront recours.

6. Peut-être l'essentiel est que la méthode soit décrite de *manière extrêmement détaillée*. En effet, l'auteur juge trop souvent superflu de donner des précisions dont il pense que d'autres analystes les connaissent bien, alors qu'ils ne disposent peut-être même pas du matériel nécessaire. Il présume que d'autres utiliseront un réactif de la même pureté, ou le même dispositif par exemple, et sa description du procédé, insuffisamment détaillée, risquera d'être interprétée différemment suivant les analystes. La méthode devra être assez explicite et détaillée pour que d'autres analystes puissent l'utiliser en obtenant des résultats uniformes.

7. La méthode doit indiquer clairement *a.* si elle a pour but de doser le composé initial ou les produits de métabolisation ou leur ensemble, et en donner les raisons; *b.* les substrats sur lesquels la méthode a été employée, avec, le cas échéant, des indications concernant son application pour d'autres substrats; *c.* les procédés d'extraction et de " purification " des extraits à partir de l'échantillon brut ; *d.* l'application de la méthode d'analyse proprement dite, c'est-à-dire la recherche de la quantité de substance pure extraite par cette méthode.

8. Certaines méthodes analytiques reposent sur l'emploi d'un dispositif onéreux, voire très onéreux, qui ne fait peut-être pas normalement partie de l'équipement de tel ou tel laboratoire. A cet égard, la question a été soulevée de savoir si le fait de nécessiter un matériel onéreux empêchait de recommander la généralisation d'une méthode. Nous avons établi comme principe général que les méthodes proposées devaient être aussi simples que possible. En revanche, si une méthode rapide et précise nécessitant un matériel onéreux est mise au point, il convient de la prendre en considération. L'expérience prouve qu'une fois acquis, ce matériel trouve des applications plus vastes, et devient de ce fait plus économique. Nous estimons en conséquence qu'il convient de recommander, malgré leur coût élevé, l'emploi d'appareils spéciaux permettant d'accélérer sensiblement les travaux, dans les cas où l'obtention des résultats exige une rapidité ou une précision ne pouvant être fournies par les méthodes classiques.

9. Nous pensons en outre que pour un composé donné, plusieurs méthodes peuvent être proposées et acceptées, à la condition qu'elles offrent toutes une sensibilité suffisante et qu'elles soient également reproductibles. On peut imaginer l'une de ces méthodes rapide mais onéreuse, et l'autre plus longue et moins coûteuse. Nous espérons que les analystes qui seraient appelés à appliquer l'une ou

3. The following were our terms of reference :

> To consider and make proposals for international co-operation in developing acceptable methods of analysis for detecting and determining pesticide residues in fruit, vegetables and stored foods.

4. A good deal of preliminary work on this subject had already been done by the Western European Union through its Working Party on Poisonous Substances in Agriculture (now incorporated in the Council of Europe) and the results of these studies were available to us. We are also aware of the actions taken by the WHO and FAO, and by the International Union of Pure and Applied Chemistry, all of which have made contributions to the problem. However, no concerted attempt to produce internationally acceptable analytical methods, speedy and reproducible, has so far been made, and until such methods are made available there can be no assurance that either the consuming public, or the plant protection services, or the chemical industry will be given a fair deal in matters concerning the use of pesticides to control the pests and diseases of crops and foodstuffs.

5. The question is admittedly complicated. The Working Party discussed at length many of the problems that arise. To avoid burdening this preliminary report with too many technicalities, we content ourselves with summarising the main points to be borne in mind in the search for an analytical method which will give reliable and uniform results in the hands of different workers.

6. Perhaps the most important point is that the method should be described *in the fullest detail.* Too often the author has made a number of assumptions with which he thinks other analysts will be well acquainted whereas they might not even have the necessary facilities at their disposal. He assumes that others will use the same purity of reagent or the same equipment, for example, and his description of the method may not be detailed enough and may be capable of interpretation in different ways by different analysts. The method should be so explicit and detailed that other analysts should be able to apply it and obtain uniform results.

7. The method should indicate clearly *a.* whether it determines the actual toxic compound, or its metabolites, or both, and give the reasons; *b.* the crops or foodstuffs on which the method has been used, possibly with supplementary information concerning its use for other produce ; *c.* the precise method of " cleaning up ", that is, the initial extraction from the food material to the point where a small quantity of the pure substance usually in solution has been isolated; *d.* the final stage of determining the amount of pure substance so extracted.

8. Some analytical methods are based on the use of expensive or even very expensive equipment which may not normally be present in several laboratories. In this connection the question was raised whether the need for expensive equipment should exclude the method concerned from being proposed for general use. We agreed as a general principle that whenever practicable a proposed method should be as simple as possible. On the other hand, if a quick and accurate method employing expensive equipment is developed, it should be considered. Experience is that such equipment once acquired soon finds wider application and in this way becomes more economic. We are therefore of the opinion that special equipment which would appreciably speed up the work should be recommended for use in spite of its cost, when the required speed or accuracy cannot otherwise be obtained.

9. Further, we anticipate that for a given compound more than one method might be proposed and accepted provided that they are sufficiently sensitive and equally reproducible. It is conceivable that one such method might be quick but expensive whereas another might be more time-consuming but cheaper. We hope that the analysts who would have to apply this or that method would then be

l'autre de ces méthodes seraient à même de faire leur choix selon les cas. Il sera également d'un grand intérêt pour certains types de composés d'établir une comparaison entre les méthodes purement chimiques et anti-cholinestérasiques.

10. Les méthodes analytiques que nous avons examinées portaient principalement sur la détermination quantitative de produits chimiques dont la présence est connue. Nous savons bien toutefois qu'un autre problème aussi important se pose aux chimistes, celui de la détermination qualitative d'une substance chimique présente dans les denrées. Pour rechercher les substances chimiques inconnues on peut avoir recours à diverses méthodes, comprenant les tests biologiques avec par exemple *Drosophila* et *Ceratitis*. Nous ne sommes pas entrés dans le détail de ces questions spécialisées, mais recommandons que l'examen en soit repris à une réunion ultérieure.

11. Le Groupe de travail a examiné cet important point de détail de la technique analytique qu'est le mode de détermination de la quantité de toxique récupérée par telle ou telle méthode d'analyse. La méthode communément employée consiste à incorporer en laboratoire une quantité connue du toxique à l'étude au substrat à analyser et à déterminer la quantité récupérée. De l'avis de certains experts éminents, cette pratique manque de réalisme dans la mesure où les résultats qu'elle permet d'obtenir diffèrent de ceux qu'on obtient avec des échantillons provenant de traitements en plein champ. En l'absence d'études comparatives des deux procédés, nous ne sommes pas en mesure de conclure.

12. Le Groupe de travail a reconnu l'importance d'un bon échantillonnage des cultures ou des produits alimentaires précédant l'analyse, mais estime qu'il convient d'étudier cette question séparément.

13. Enfin, nous avons envisagé les dispositions administratives qui permettraient de réaliser des progrès aussi rapides que possible. Nous recommandons tout d'abord que l'OEPP invite ses États membres à présenter pour telles ou telles substances chimiques toxiques des procédés d'analyse dont ils estiment qu'ils méritent d'être reconnus à l'échelon international. Il conviendrait toutefois que ces méthodes aient été au préalable rigoureusement testées par au moins trois laboratoires et si possible approuvées par un comité constitué soit dans le pays promoteur de la méthode, soit par la collaboration d'un groupe de pays, et comprenant des analystes de différents laboratoires (agriculture, santé publique et secteur privé).

14. La description complète des méthodes ainsi présentées serait ultérieurement diffusée par l'OEPP à tous ses autres pays membres; ces derniers seraient invités à étudier ces méthodes, notamment du point de vue de leur exactitude et leur reproductibilité. Tout pays participant à ces travaux serait invité à désigner un correspondant, connaissant à fond les travaux analytiques, chargé d'adresser toutes questions, remarques ou propositions au correspondant du pays qui a proposé la méthode. Ce dernier aurait la direction des échanges nécessaires de résultats et de l'éventuelle révision de la méthode. Douze mois devraient suffire pour ces essais internationaux. Si à la fin de cette période, l'accord se faisait sur une méthode, celle-ci serait à nouveau soumise dans sa forme définitive par le pays d'origine à l'OEPP, laquelle pourrait en référer à son Groupe de Travail; la méthode pourrait ensuite être diffusée à tous les pays membres avec une recommandation en vue de son adoption internationale.

15. Déjà trois méthodes analytiques, portant respectivement sur la détermination chimique des résidus de DDT, de malathion et de mercure ont été mises collectivement à l'essai par plusieurs laboratoires du Royaume-Uni, dans les conditions indiquées au paragraphe 13 ci-dessus, et seront prochainement soumises aux autres pays membres conformément à la ligne de conduite proposée.* Deux autres méthodes, traitant respectivement du HCH et du déméton-méthyle (" metasystox "), suivront les trois premières. Les propositions d'autres pays sont également attendues prochainement; l'Allemagne par exemple soumettra six méthodes sur les produits suivants: phosdrine, Thiodan, thirame, trichlorfon (Dipterex), zinèbe et zirame.

---

* La méthode de recherche du DDT est publiée dans le présent rapport (pp. 12-22) par autorisation du directeur de l'*Analyst*, périodique où ce texte a déjà paru en anglais (*Analyst*, 1960, *85* (1013), 600-6).

able to make their choice according to the particular circumstances of the case. For certain types of compounds a comparison between purely chemical and anti-cholinesterase methods will also be of great interest.

10. The analytical methods which we discussed chiefly concerned the quantitative determination of a given chemical compound or element known to be present. We are aware, however, that analysts face another equally important problem, namely the qualitative detection of a chemical in foodstuffs. For the detection of unknown chemicals various methods may have to be applied, including biological tests with, for example, *Drosophila* and *Ceratitis*. We did not go into the details of these specialised subjects but recommend further study at a further meeting.

11. The Working Party discussed an important point of detail in analytical procedure, namely the manner by which recovery determinations are carried out. The common practice is to add in the laboratory a known amount of the pesticide under test to the foodstuff to be examined and to determine how much is recovered. In the view of some recognised experts this procedure is unreal in that the results obtained in this way differ from those obtained with " natural " samples prepared under field conditions. In the absence of adequate comparative studies of the two procedures we are unable to take the discussion to a conclusion.

12. The Working Party recognised the importance of the correct sampling of the crop or foodstuff prior to analysis, but considered this a problem to be studied separately.

13. Finally we gave attention to the administrative machinery which might be established to ensure as quick progress as possible. We recommend first that EPPO should invite its member countries to submit methods of analysis for toxic chemicals which they consider worthy of recognition on an international basis. As a preliminary to submission, however, such methods should have been rigorously tested by at least three national laboratories, and if possible have been approved by a panel or committee formed either within the originating country or by collaboration between a group of countries, and including analytical chemists from different laboratories (Ministries of agriculture and public health, and of the manufacturing industry).

14. The full description of methods so submitted would then be distributed by EPPO to all other member countries, who would be asked to study the methods, their accuracy and reproducibility. Each country participating in this work would be asked to nominate a correspondent, well acquainted with analytical work, who would send any questions, remarks or proposals to the correspondent in the country submitting the method. The latter would be responsible for conducting the necessary exchange of experience and possible revision of the method. Twelve months should suffice for this international testing. At the end of that period, if agreement had been reached, the method in its final form should be re-submitted by the originating country to EPPO, who might be expected to refer it to this Working Party, after which it could be distributed to all member countries with a recommendation for international acceptance.

15. Already three analytical methods, dealing respectively with the chemical determination of residues of DDT, malathion and mercury, have been tested in United Kingdom laboratories on a collaborative basis, conforming to the conditions set out in para. 13 above, and will shortly be available for distribution to other member countries in accordance with the procedure suggested. * Two further methods, dealing respectively with BHC and demeton-methyl (" metasystox ") will follow. Further proposals from other countries may also be expected in the near future, including the following six from Germany : phosdrin, Thiodan, thiram, trichlorphon (Dipterex), zineb and ziram.

---

* The DDT method is included in this report (pp. 13-23) by permission of the editor of *The Analyst*, in which journal the method has already been published (*Analyst*, 1960, *85* (1013), 600-6).

16. Si peu d'analystes se consacrent à ce domaine important et hautement spécialisé qu'il importe d'éviter autant que possible les efforts perdus en chevauchements d'activités dans les différents pays. Nous convenons donc que lorsqu'un pays membre a entrepris, ou se propose d'entreprendre une nouvelle étude sur une méthode analytique, il en informera l'OEPP afin que d'une part tous les autres pays membres puissent en être avisés, et que d'autre part, tel laboratoire d'un autre pays puisse, s'il le désire et en accord avec le pays qui se charge de l'étude, collaborer au travail.

17. Nous espérons que le Comité estimera possible d'accepter nos recommandations, dont nous considérons qu'elles offrent de sérieuses possibilités de promouvoir une collaboration internationale dans la mise au point de méthodes d'analyse acceptables pour la détection et l'évaluation des résidus de pesticides dans les fruits, les légumes et les denrées stockées.

18. Nous exprimons notre reconnaissance à M. le Ministre français de l'agriculture pour avoir bien voulu autoriser le Groupe de travail à se réunir Salle Sully.

Agréez, Monsieur le Président, l'expression de nos sentiments respectueux.

*Signé au nom du Groupe de travail :*
INGVAR GRANHALL
*(Président).*

Janvier 1961.

142, avenue des Champs-Élysées, Paris.

16. So few analysts are available to work on this important and highly specialised field that it is desirable there should be a minimum of possible wasted effort through overlapping of interests in different countries. We agreed, therefore, that when a member country began, or proposed to begin, a new study on an analytical method, it should inform EPPO so that all other member countries could be advised to this effect; further, that a laboratory of another country could, if it wished, and with the agreement of the country making the study, join in that study.

17. We trust that your Committee may see its way to accept our recommendations, which we consider afford a good prospect of ensuring international co-operation in the development of acceptable methods of analysis for the detection and determination of pesticide residues in fruit, vegetables and stored foodstuffs.

18. We are indebted to the French Minister of Agriculture for allowing the Working Party to meet in the Salle Sully.

We have the honour to be, Sir,

Your obedient servants,

*Signed on behalf of the Working Party :*

INGVAR GRANHALL

*(Chairman).*

January 1961.

142, avenue des Champs-Élysées, Paris.

# Évaluation des petites quantités de DDT dans la farine et autres denrées alimentaires *

En octobre 1956, au cours d'une réunion à laquelle étaient représentés le Sous-comité scientifique du Comité consultatif interministériel sur les substances toxiques employées en agriculture et pour le stockage des denrées, le Comité des méthodes analytiques de la Société de chimie analytique et l'Association des fabricants britanniques d'insecticides (actuellement Association des fabricants britanniques de produits chimiques agricoles), il a été décidé de créer des comités chargés d'étudier en commun les méthodes analytiques d'évaluation des résidus de pesticides dans les denrées alimentaires.

Les méthodes publiées ou inédites concernant tel pesticide seraient examinées en vue d'élaborer une technique détaillée capable de donner des résultats exacts et susceptibles d'être reproduits pour un nombre aussi grand que possible de denrées alimentaires. Au début de 1958, des comités se mirent à l'œuvre pour le DDT et le HCH ; d'autres ont été créés depuis lors. Le présent rapport, établi par le Comité du DDT, résulte de la première de ces études en commun. La liste des participants figure en p. 14.

## EXPÉRIMENTATION

Au début de l'enquête, les méthodes analytiques employées à la Station de recherche de Long Ashton[1] et au Laboratoire officiel de chimie[2] ont été examinées. Ces deux méthodes étaient fondées sur celle de Schechter et de ses collaborateurs[3], décrite pour la première fois en 1945. Une méthode mixte élaborée à partir des deux précédentes fut utilisée dans le cadre de l'étude commune d'un extrait (obtenu au tétrachlorure de carbone) de grain auquel avait été ajouté une certaine quantité de DDT inconnue des différents analystes. Toutefois, en raison de variantes de technique, les résultats ne répondaient pas aux exigences de l'analyse statistique.

Des difficultés ont été rencontrées avec l'oxydation au permanganate pour l'élimination des matières grasses ; ce procédé a été abandonné au profit d'une colonne du type décrit par Davidow[4]. Les résultats étaient encore variables, et il a été démontré que les impuretés aromatiques de l'éther de pétrole léger employé risquaient d'occasionner une perte de DDT ; l'emploi du n-hexane fut proposé. D'autres travaux ont ensuite été effectués, les membres du Comité ajoutant eux-mêmes du DDT à de la farine complète, avec d'assez bons résultats.

A ce stade, l'expérience a montré les risques d'erreurs :

*a.* au cours de l'oxydation au permanganate ;

*b.* du fait des impuretés aromatiques de l'éther de pétrole léger ou du n-hexane ;

*c.* du fait de la perte de DDT à partir de la colonne de gel de silice sauf dans le cas où le gel a été particulièrement sélectionné.

Les pertes intervenues au cours de l'oxydation au permanganate furent éliminées, l'oxydation ayant été remplacée par l'emploi d'une colonne de Célite acide. Des méthodes de purification de l'éther de pétrole et du n-hexane ont été mises au point et sont décrites à l'annexe II. (Il convient de noter que le réactif désigné sous l'appellation " petroleum spirit, 'AnalaR', exempt d'hydrocarbures aromatiques " peut contenir jusqu'à 0,5 % de ces hydrocarbures.) Le n-hexane employé était du type réactif de laboratoire, c'est-à-dire du degré de pureté le plus élevé qu'on puisse obtenir. La méthode d'analyse a ensuite été révisée afin de tenir compte des difficultés ci-dessus. Elle consistait en principe à extraire le DDT du produit au moyen d'un solvant, ordinairement le n-hexane ou le n-hexane et l'acétone (mais parfois l'éther de pétrole léger), à laver l'extrait sur la colonne de Celite acide puis sur une colonne de gel de silice, à titrer l'extrait ainsi lavé et à déterminer le tetranitro-DDT en mesurant la coloration bleue apparue dans la solution de benzène après addition d'hydroxyde de potassium éthanolique.

---

* *Rapport du Comité du DDT créé en 1958 par trois organismes britanniques, le Sous-Comité scientifique du Comité consultatif interministériel sur les substances toxiques employées en agriculture et pour le stockage des denrées, le Comité des méthodes analytiques de la Société de chimie analytique, et l'Association des fabricants britanniques de produits chimiques agricoles.*

# The Determination of Small Amounts of DDT in Flour and Other Foodstuffs *

In October, 1956, a representative meeting of the Scientific Subcommittee of the Interdepartmental Advisory Committee on Poisonous Substances Used in Agriculture and Food Storage, the Analytical Methods Committee of the Society for Analytical Chemistry and the Association of British Insecticide Manufacturers (now the Association of British Manufacturers of Agricultural Chemicals) agreed to set up panels to undertake collaborative studies of analytical methods for pesticide residues in foodstuffs.

Published or unpublished methods for a pesticide would be examined with the aim of arriving at a detailed procedure that would give accurate and reproducible results for as wide a range of foodstuffs as possible. Early in 1958, panels on DDT and BHC began their work, and others have since been established. This report, by the DDT Panel, is the first of these collaborative studies to be presented. Those taking part are listed on p. 14.

## EXPERIMENTAL

At the beginning of the investigation, analytical methods used at Long Ashton Research Station[1] and at the Laboratory of the Government Chemist[2] were considered. Both these methods were based on that originally described in 1945 by Schechter and his co-workers[3]. A composite method devised from these procedures was used in a collaborative study of a carbon tetrachloride extract of grain to which a definite amount of DDT, unknown to the individual analysts, had been added. However, owing to variations in technique the results were not suitable for statistical analysis.

Difficulties were experienced with the use of permanganate oxidation for " cleaning up " fatty materials, and this procedure was abandoned in favour of a column of the type described by Davidow[4]. Results were still variable, and it was shown that aromatic impurities in the light petroleum used could lead to loss of DDT ; the use of *n*-hexane was proposed. Further work was then carried out, the members themselves adding DDT to wholemeal flour, with fairly good results.

At this stage, experience had shown that errors could occur :

*a*. during permanganate oxidation ;

*b*. owing to aromatic impurities in light petroleum or *n*-hexane ;

*c*. owing to loss of DDT from the column of silica gel unless the gel was specially selected.

Losses during permanganate oxidation had been eliminated, as the oxidation had been replaced by use of an acid - Celite column. Methods were laid down for purifying light petroleum and *n*-hexane and are described in Appendix II. (It should be noted that the reagent described as " petroleum spirit, ' AnalaR ', free from aromatic hydrocarbons " may contain up to 0,5 per cent of such hydrocarbons.) The *n*-hexane used was of laboratory-reagent grade, this being the purest grade available. The method of analysis was then revised to cover the above points. In principle it consisted in extracting the DDT from the foodstuff with a solvent, usually *n*-hexane or *n*-hexane and acetone (but sometimes light petroleum), cleaning up the extract on the acid - Celite column and then on a silica-gel column, titrating the cleaned-up extract and determining the tetranitro-DDT by measuring the blue colour developed by its benzene solution on addition of ethanolic potassium hydroxide.

## RESULTS

In the table on page 15 are shown the results of collaborative determinations by the recommended method (see Appendix I) of DDT added to 20-g samples of wholemeal flour. In experiment A, the pesticide was added by direct weighing, and in experiments B and C it was added as a standard solution in carbon tetrachloride. In experiment E, to cover a wider range of residues, it was decided to circulate a sample containing at least 10 p.p.m. of added DDT. The concentration chosen was 12,5 p.p.m., and, so that analysts could

---

* *Report by the DDT Panel set up jointly in 1958 by three bodies in the United Kingdom, the Scientific Subcommittee of the Interdepartmental Advisory Committee on Poisonous Substances Used in Agriculture and Food Storage, the Analytical Methods Committee of the Society for Analytical Chemistry, and the Association of British Manufacturers of Agricultural Chemicals.*

## RÉSULTATS

Le tableau en regard donne les résultats obtenus par la méthode recommandée (cf. annexe I) pour l'évaluation du DDT ajouté à des échantillons de 20 g de farine complète. Dans l'expérience A, le pesticide a été ajouté par pesée directe, et dans les expériences B et C, il a été ajouté dissous dans du tétrachlorure de carbone sous forme de solution standard. Dans l'expérience E, il a été décidé, pour couvrir une plus grande variété de résidus, de faire usage d'un échantillon contenant au moins 10 p.p.m. de DDT ajouté. La concentration choisie était de 12,5 p.p.m. et pour que les analystes puissent confronter leurs résultats sur les parties aliquotes d'un extrait, il a été distribué une partie d'échantillon suffisante pour permettre le partage en deux de l'extrait. Un échantillon contenant 13,7 p.p.m. de DDT ajouté a été distribué en même temps (expérience D). Les analystes ignoraient la teneur en DDT des échantillons dans les expériences A, B, C et E ; en revanche, celle-ci leur avait été indiquée à l'avance dans l'expérience D.

Bien que la variation ait été plus importante pour les échantillons à teneur inconnue en DDT, le Comité estime que la différence n'était pas exagérée pour une méthode de ce genre.

Les travaux dont il est rendu compte ont été limités à la farine complète, mais certains membres du Comité ont employé avec succès pour d'autres produits la méthode décrite à l'annexe I, avec les modifications du procédé d'extraction indiquées. Les travaux sur la farine ayant démontré qu'un accord raisonnable pouvait être réalisé entre les différents chercheurs sur un extrait obtenu, le Comité recommande la méthode en question.

---

### Références


1. Batt, R. F., & Martin, J. T., *Ann. Rep. Agric. Hort. Res. Sta.*, Bristol, 1956, 127.
2. Sergeant, G. A., & Wood, R., *Analyst*, 1959, **84**, 423.
3. Schechter, M. S., Soloway, S. B., Hayes, R. A., & Haller, H. L., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1945, **17**, 704.
4. Davidow, B., *J. Ass. Off. Agric. Chem.*, 1950, **33**, 130.


### Membres du Comité britannique du DDT
### Membership of the British DDT Panel

| | |
|---|---|
| M. G. Ashley | *Co-opted 29/4/59.* |
| Angela N. Bates | *Co-opted 16/12/58.* |
| D. F. H. Button | |
| H. Crossley | |
| E. D. Chilwell | |
| J. Colthurst | *Resigned 29/4/59.* |
| H. Egan | *Co-opted 3/3/59.* |
| E. G. Hill | *Co-opted 7/5/58.* |
| K. Jeffs | *Co-opted 29/4/59.* |
| G. A. Lombard | |
| J. T. Martin | *Chairman ; resigned 3/3/59.* |
| E. J. Miller | |
| G. A. Sergeant | *Resigned 3/3/59.* |
| J. H. Shelton | *Resigned 10/11/59.* |
| A. Taylor | *Secretary from 7/10/58.* |
| C. C. Thompson | *Secretary ; resigned 7/10/58.* |
| E. E. Turtle | *Chairman from 3/3/59.* |
| J. Ward | *Resigned 29/4/59.* |
| R. Wood | *Co-opted 3/3/59; resigned 10/11/59.* |
| C. H. Wordsworth | |

check the concordance of their results on aliquots of an extract, sufficient of the sample was circulated to permit the extract to be halved. A sample containing 13,7 p.p.m. of added DDT was circulated at the same time (experiment D). The DDT contents of the samples in experiments A, B, C and E were unknown to the analysts, but that in experiment D was declared in advance.

Although the variation was greater for the samples of unknown DDT content than for the known, the Panel considered that it was not unreasonable for a method of this kind.

The work reported has been confined to wholemeal flour, but individual members of the Panel have satisfactorily used the method described in Appendix I, with the indicated modifications to the extraction procedure, for other commodities. As work with flour has shown that reasonable agreement is possible between different workers once an extract has been obtained, the Panel recommends this method for use.

***Résumé des résultats obtenus pour le DDT dans la farine complète***
SUMMARY OF COLLABORATIVE RESULTS FOR DDT IN WHOLEMEAL FLOUR

| *Expérience* *Experiment* | | A | | B | | C | | D | | E | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *DDT (p. p. m.)* | | *Ajouté Added* | Trouvé Found | *Ajouté Added* | Trouvé Found | *Ajouté Added* | Trouvé Found | *Ajouté Added* | Trouvé Found | *Ajouté Added* | Trouvé Found |
| *LABORATOIRE — LABORATORY* | N° 1 | 4,6<br>3,4 | 3,4<br>1,6 | 2,5<br>— | 1,5<br>— | 5,0<br>— | 4,0<br>— | 13,7<br>— | 12,7<br>— | 12,5<br>— | 10,6 11,5<br>— |
| | N° 2 | 9,0<br>4,8 | 6,3<br>6,0 | 2,5<br>— | 2,5<br>— | 5,0<br>— | 4,8<br>— | 13,7<br>— | 13,5<br>— | 12,5<br>— | 12,2 12,4<br>— |
| | N° 3 | 4,5 | 4,4 | 2,5 | 3,9 | 5,0 | 6,5 | — | — | — | — |
| | N° 4 | 5,6<br>5,0 | 5,2<br>5,0 | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | 12,5<br>— | 11,1 12,3<br>— |
| | N° 5 | 10,0<br>11,0 | 10,1<br>7,9 | 2,5<br>— | 3,4<br>— | 5,0<br>— | 6,3<br>— | 13,7<br>— | 13,4<br>— | 12,5<br>— | 13,3 13,2<br>— |
| | N° 6 | 5,9<br>4,5 | 8,0<br>4,4 | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | 13,7<br>— | 12,5<br>— | 12,5<br>— | 9,9 10,4<br>— |
| | N° 7 | 4,2<br>2,5 | 3,5<br>3,6 | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— |
| | N° 8 | 6,6<br>5,8 | 6,6<br>5,5 | —<br>— | —<br>— | 5,0<br>— | 4,7<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— | —<br>— |
| | N° 9 | — | — | 2,5 | 3,4 | 5,0 | 6,2 | 13,7 | 13,4 | 12,5 | 12,6 |
| *MOYENNE MEAN* | | | | | 2,94 | | 5,42 | | 13,10 | | 11,77 |
| *Standard DEVIATION standard* | | | ± 2,5 | | ± 0,90 | | ± 1,0 | | ± 0,46 | | ± 1,13 |
| *COEFFICIENT de — of VARIATION* | | | 26,7 % | | 32,4 % | | 18,5 % | | 3,5 % | | 9,7 % |

# ANNEXE I

## *Méthode recommandée de détermination de petites quantités de DDT dans la farine et autres denrées alimentaires*

### *DISPOSITIF*

Seul un matériel de verre sera employé pour toute l'opération.

*Tube à chromatographie :* Tube filtrant, 30 mm × 200 mm, comportant à sa partie inférieure une plaque poreuse en verre fritté n° 1.

*Tube pour gel de silice :* Tube de verre, 16 mm × 200 mm, étiré à sa partie inférieure pour retenir un tampon de coton.

*Évaporateur :* Type simplifié de l'évaporateur Kuderna-Danish, représenté ci-dessous (Fig. I). Il se compose d'un flacon de 500 ml à fond rond, dont le col est terminé par un rodage femelle B24, et dont la base comporte un rodage mâle B14.

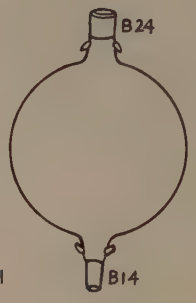

Fig. I

En cours d'expérience, on fixe au ballon un dispositif pour éviter l'entraînement des gouttelettes de solvant, relié à un réfrigérant pour la récupération du solvant, et on relie le rodage inférieur à un flacon à fond rond de 25 ml à rodage B14, maintenu en place par une pince à ressort. On chauffe ce dispositif en plaçant le plus grand des deux flacons sur un cylindre ouvert aux deux extrémités, fait avec une boîte de conserve par exemple, et placé au-dessus d'un bain de vapeur de sorte que le flacon de 25 ml et la partie inférieure de celui de 500 ml soient entourés de vapeur. Quelques perles de verre ou une mince bande de tissu de polytetrafluoréthylène sont nécessaires pour éviter les soubresauts du solvant au cours de l'ébullition.

*Dispositif d'extraction :* Un grand extracteur de Soxhlet ou un percolateur composé d'une colonne de fractionnement (Quickfit et Quartz FC8/23) modifiée par l'adjonction d'un tube latéral de 8 mm de diamètre environ (Fig. II en regard). Une spire de verre (Quickfit & Quartz Ex 13/25) et un tampon de coton de verre servent de support à la base de la colonne. Le dispositif est complété en haut par un réfrigérant et en bas par un flacon de 100 ml.

On met une quantité de substance pesée dans la colonne et on ajoute le solvant. Lorsqu'on chauffe, le solvant s'évapore, passe dans le bras latéral, se condense, et revient dans le flacon par filtration à travers la substance. Si on isole par de la ficelle d'amiante la colonne de fractionnement, mais non le bras latéral, le grain n'est pas chauffé dans la même mesure par les vapeurs du solvant.

*Spectrophotomètre ou colorimètre :* Pour mesurer les densités optiques à 600 mμ de longueur d'onde ou centré sur 600 mμ.

### *RÉACTIFS*

Tous les produits doivent être si possible de spécification " pour analyse ".

*Éther de pétrole léger* (température d'ébullition variant entre 60 et 80° C) *ou n-hexane :* Exempt d'hydrocarbures aromatiques. Le réactif employé doit également être encore purifié par l'une des méthodes décrites à l'annexe II.

*Célite* 545 *:* Disponible chez Johns-Manville Co. Ltd., 20, Albert Embankment, Londres, S.E.11.

*Acétone.*

*Sulfate anhydre de sodium.*

# APPENDIX 1

## *Recommended Method for Determining Small Amounts of DDT in Flour and Other Foodstuffs*

### *APPARATUS*

All-glass apparatus should be used throughout.

*Chromatographic tube :* A filter tube, 30 mm × 200 mm, fitted with a N° 1 sintered-glass plate.

*Tube for silica gel :* A glass tube, 16 mm × 200 mm, tapering at the lower end to retain a cotton-wool plug.

*Evaporator :* This is a simplified form of the Kuderna - Danish evaporator, as shown in Fig. I on the opposite page. It consists of a 500-ml round-bottomed flask, the neck of which is fitted with a B24 socket and to the bottom of which is sealed a B14 cone.

In use, a splash head leading to a condenser for solvent recovery is fitted to the socket, and a 25-ml round-bottomed flask with a B14 ground-glass socket is attached to the cone and held in place by a spring clip. The apparatus is heated by supporting the larger flask on an open-ended cylinder, e.g., made from a tin can, that stands on a steam-bath in a way such that the 25-ml flask and the lower part of the larger flask are surrounded by steam. A few glass beads or a narrow strip of polytetrafluoroethylene sheeting is necessary to prevent the boiling solvent from bumping.

*Extraction apparatus :* A large Soxhlet extractor or a percolator consisting of a fractionating column (Quickfit and Quartz FC8/23) modified by fitting a side-tube, approximately 8 mm bore, as shown in Fig. II below.

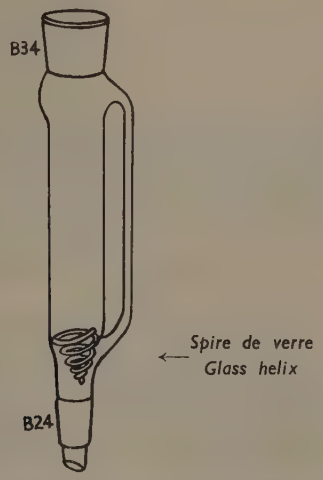


Fig. II

A glass helix (Quickfit and Quartz Ex 13/25) and a plug of glass-wool serve as a retaining support at the bottom of the column. A condenser at the top and a 100-ml flask at the bottom complete the apparatus.

A weighed amount of material is placed in the column, and solvent is added. When heat is applied, the solvent in the flask is vaporised, passes up the side-arm, is condensed and percolates through the material back into the flask. If the fractionating column is lagged with asbestos cord, but not the side-arm, then the grain is not heated by the solvent vapours to the same extent.

*Spectrophotometer or absorptiometer :* To measure optical densities at a wavelength of, or centred on, 600 mμ.

### *REAGENTS*

When applicable, all materials must be of analytical-reagent grade.

*Light petroleum* (boiling range 60° to 80° C) *or* n-*hexane :* Free from aromatic hydrocarbons. The reagent used must be further purified by one of the methods described in Appendix II.

*Celite* 545 : Obtainable from Johns-Manville Co. Ltd., 20, Albert Embankment, London, S.E. 11.

*Acetone.*

*Sodium sulphate,* anhydrous.

*Mélange d'acide sulfurique :* Volumes égaux d'acide sulfurique concentré et d'acide sulfurique fumant contenant 20 % d'anhydride sulfurique.

*Gel de silice :* Employer un gel de silice passant dans un tamis à 100 mailles, mais retenu par 200 mailles (normes britanniques). Activer en portant à 250° C pendant 2 ou 3 heures avant l'emploi.

*Éther éthylique.*

*Alcool isoamylique ou n-amylique.*

*Propylène-glycol :* Redistiller, écarter les premiers 10 % du distillat.

*Mélange nitrant :* Mélange de volumes égaux d'acide nitrique fumant et d'acide sulfurique concentré. A préparer au moment de l'emploi.

*Solution d'hydroxyde de sodium :* 5 % p/v, aqueuse.

*Solution de chlorure de sodium :* saturée, aqueuse.

*Solution éthanolique d'hydroxyde de potassium :* Chauffer sous reflux jusqu'à dissolution 5 g d'hydroxyde de potassium avec 100 ml d'éthanol absolu. Préparer cette solution au moment de l'emploi, et filtrer immédiatement avant l'emploi.

Une autre méthode consiste à faire dissoudre 5 g d'hydroxyde de potassium et 2 g d'urée en chauffant sous reflux avec 100 ml d'éthanol absolu. Refroidir, filtrer, et mettre en flacon bien bouché. Il peut se produire progressivement un léger dépôt, qu'on prendra soin de ne pas agiter en prélevant des fractions de solution au moment de l'emploi. L'urée a la propriété de conserver la solution, qui sans elle vire peu à peu au jaune si elle reste inemployée.

*Solvant d'extraction :* Mélanger 2 volumes d'éther de pétrole léger à température d'ébullition variant entre 40 et 60° C, avec 1 volume de benzène.

## EXTRACTION DU DDT

*Céréales :* Extraire 25 g de céréales moulues dans un percolateur (Fig. I) ou dans un extracteur Soxhlet avec du n-hexane ou de l'éther de pétrole léger pendant au moins 4 heures, le solvant restant en vive ébullition sous reflux ; il est souhaitable d'interrompre l'extraction au bout de 2 ou 3 heures afin d'agiter la substance dans la cartouche d'extraction ou le percolateur. Réduire le volume de l'extraction à 100 ml par lente distillation ou par passage en surface d'un courant d'air sec à environ 40° C. Poursuivre comme indiqué ci-dessous sous " Purification " mais utiliser 10 ml de mélange d'acide sulfurique au lieu de 40 ml.

*Huiles végétales :* Faire dissoudre un échantillon de 25 ml dans 100 ml de n-hexane dans un flacon de 500 ml, et continuer comme indiqué sous " Purification ".

*Graisses animales :* Extraire un échantillon haché de 25 g au moyen de 150 ml de n-hexane dans un extracteur Soxhlet pendant au moins 1 h 1/2. Continuer comme indiqué sous " Purification ".

*Beurre :* Chauffer 25 g de beurre et 50 ml de n-hexane dans un bécher de 100 ml jusqu'à dissolution complète. Refroidir la solution, et décanter la couche de n-hexane de l'eau et des grumeaux et la faire passer sur une colonne de 5 cm de sulfate anhydre de sodium. Laver la couche aqueuse et le sulfate de sodium avec trois fractions de 15 ml de n-hexane, réunir les différentes fractions de n-hexane dans un flacon de 500 ml, et continuer comme indiqué sous " Purification ".

*Lait :* Dans un flacon de 500 ml, ajouter lentement 50 ml d'acide sulfurique concentré à 100 ml de lait glacé. Agiter fortement en tournant, et refroidir. Transvaser le mélange dans une ampoule à décanter de 250 ml, rincer le flacon avec 2 fractions de 50 ml de n-hexane, et ajouter le tout au contenu de l'ampoule à décanter Ajouter 5 ml d'alcool amylique et agiter fortement pendant 1 minute. Lorsque les couches se sont séparées (au bout de 30 minutes environ), soutirer la couche aqueuse et la jeter. Verser l'extrait au n-hexane dans le flacon d'origine, et rincer l'ampoule à l'hexane. Continuer comme indiqué sous " Purification " mais en utilisant 10 ml d'acide sulfurique concentré au lieu de 40 ml de mélange d'acide sulfurique.

*Matières végétales :* Dans un flacon de 500 ml contenant 100 g de matières végétales hachées, placer 100 ml d'acétone et de n-hexane respectivement. Agiter le flacon hermétiquement bouché pendant 1 heure dans un agitateur mécanique. Filtrer le liquide au moyen d'un papier filtre grossier dans une ampoule à décanter de 500 ml et extraire l'acétone avec trois fractions de 200 ml d'eau. Sécher l'extrait de n-hexane sur sulfate anhydre de sodium, décanter dans une éprouvette graduée, et noter le volume de l'extrait. (On suppose que la totalité du DDT passe dans la couche de n-hexane ; il convient donc de corriger le résultat définitif selon le volume de l'extrait obtenu à ce stade.) Transvaser l'extrait dans une fiole de 500 ml, et rincer plusieurs fois au n-hexane de manière à obtenir un volume total de 100 ml environ. Continuer comme indiqué sous " Purification ", mais utiliser 10 ml d'acide sulfurique concentré au lieu de 40 ml de mélange d'acide sulfurique ; de même, utiliser de l'acide sulfurique concentré au lieu de mélange d'acide sulfurique dans la préparation de la colonne de Célite 545 acide.

*Sulphuric acid mixture :* Mix equal volumes of concentrated sulphuric acid and fuming sulphuric acid containing 20 per cent. of sulphur trioxide.

*Silica gel :* Use material passing a 100-mesh, but retained by a 200-mesh, B.S. sieve. Activate by heating at 250° C for 2 or 3 hours before use.

*Diethyl ether.*

iso*Amyl alcohol or* n-*amyl alcohol.*

*Propylene glycol :* Redistil, and reject the first 10 per cent. of the distillate.

*Nitration acid :* Mix equal volumes of fuming nitric acid and concentrated sulphuric acid. Prepare freshly as required.

*Sodium hydroxide solution :* 5 per cent. w/v, aqueous.

*Sodium chloride solution :* saturated, aqueous.

*Ethanolic potassium hydroxide solution :* Heat 5 g of potassium hydroxide under reflux with 100 ml of absolute ethanol until dissolved. Prepare this solution freshly, and filter immediately before use.

Alternatively, dissolve 5 g of potassium hydroxide and 2 g of urea by heating under reflux with 100 ml of absolute ethanol. Cool, filter, and store in a well stoppered bottle. A slight sediment may gradually develop, and care should be taken not to disturb this when withdrawing portions of the solution for use. The urea acts as a preservative of the solution, which otherwise gradually turns yellow on storage.

*Extraction solvent :* Mix 2 volumes of light petroleum, boiling range 40° to 60° C, with 1 volume of benzene.

## EXTRACTION OF DDT

*Cereals :* Extract 25 g of ground cereal in a percolator (Fig. I) or in a Soxhlet extractor with *n*-hexane or light petroleum for at least 4 hours, with the solvent boiling briskly under reflux ; it is desirable to interrupt the extraction after 2 or 3 hours in order to re-pack the extraction thimble or percolator. Reduce the volume of extract to about 100 ml by gentle distillation or by drawing a current of dry air over its surface at about 40° C. Continue as described below under " Clean-up Procedure ", but use 10 ml of sulphuric acid mixture instead of 40 ml.

*Vegetable oils :* Dissolve a 25-ml sample in 100 ml of *n*-hexane in a 500-ml flask, and continue as described under " Clean-up Procedure ".

*Animal fat :* Extract a minced 25-g sample with 150 ml of *n*-hexane in a Soxhlet extractor for at least 1½ hours. Continue as described under " Clean-up Procedure ".

*Butter :* Warm 25 g of butter and 50 ml of *n*-hexane in a 100-ml beaker until solution is complete. Cool the solution, and decant the *n*-hexane layer from the water and curds through a 2-inch (5-cm) column of anhydrous sodium sulphate. Wash the aqueous layer and the sodium sulphate with three 15-ml portions of *n*-hexane, combine the washings and the main *n*-hexane solution in a 500-ml flask, and continue as described under " Clean-up Procedure ".

*Milk :* To 100 ml of chilled milk in a 500-ml flask, slowly add 50 ml of concentrated sulphuric acid, with swirling and cooling. Transfer the mixture to a 250-ml separating funnel, rinse the flask with two 50-ml portions of *n*-hexane, and add the rinsings to the contents of the separating funnel. Add 5 ml of amyl alcohol, and shake vigorously for 1 minute. When the layers have separated (usually after about 30 minutes), run off and reject the aqueous layer, and rinse the *n*-hexane extract into the original flask with hexane. Continue as described under " Clean-up Procedure ", but use 10 ml of concentrated sulphuric acid instead of 40 ml or sulphuric acid mixture.

*Vegetable material :* In a 500-ml flask containing 100 g of minced material place 100 ml each of acetone and *n*-hexane. Rotate the tightly stoppered flask for 1 hour in a mechanical tumbling device. Filter the liquid through a coarse filter-paper into a 500-ml separating funnel and remove acetone by extracting with three 200-ml portions of water. Dry the *n*-hexane extract over anhydrous sodium sulphate, decant into a measuring cylinder, and note the volume of extract. (It is assumed that all the DDT passes into the *n*-hexane layer, and the final result should be corrected according to the volume of extract obtained at this point.) Transfer the extract to a 500-ml flask, and rinse the cylinder several times with *n*-hexane to make up to a total volume of approximately 100 ml. Continue as described under " Clean-up Procedure ", but use 10 ml of concentrated sulphuric acid instead of 40 ml of sulphuric acid mixture ; also, use concentrated sulphuric acid instead of sulphuric acid mixture in the preparation of the acid-Celite 545 column.

## PURIFICATION

Mettre 4 g de Célite 545 dans le tube à chromatographie, ajouter 8 g de Célite 545 intimement mélangés avec 4 ml de mélange d'acide sulfurique, remplir uniformément, enfin, ajouter une couche de 1 cm de sulfate anhydre de sodium. Remplir avec du n-hexane, et laisser égoutter. Ajouter à l'extrait obtenu (décrit ci-dessus sous " Extraction du DDT ") 40 ml, sauf précision différente, de mélange d'acide sulfurique en plusieurs fractions ; agiter vigoureusement en tournant pendant 30 secondes environ après chaque addition. En cas de production de forte chaleur, laisser refroidir après chaque addition de mélange d'acide. Après la dernière addition de mélange d'acide, laisser reposer le flacon pendant au moins 30 minutes pour permettre la séparation, puis décanter la couche organique dans le tube à chromatographie. Lorsque la colonne est égouttée, laver le mélange acide dans le flacon avec trois fractions successives de 75 ml de n-hexane. Pour chaque lavage, imprimer un vigoureux mouvement de rotation au flacon pendant environ 30 secondes, et après avoir laissé reposer pendant au moins 15 minutes pour permettre la décantation, faire passer la couche organique dans le tube à chromatographie. (Lorsque l'émulsion se casse trop lentement, il est parfois utile d'ajouter une ou deux fractions de 5 ml d'alcool n-amylique ou isoamylique au liquide, et, si nécessaire, de laisser la séparation se terminer pendant la nuit ; la détermination peut être interrompue à ce stade.) Rassembler dans l'évaporateur les différentes fractions liquides provenant de la colonne, et réduire le solvant à un volume de quelques millilitres en le mettant à chauffer sur un bain de vapeur.

Obtenir une bouillie légère en mélangeant 8 g de gel de silice avec un éther de pétrole léger ou du n-hexane et faire couler cette bouillie avec une quantité supplémentaire de solvant dans le tube de verre contenant le tampon de coton. (L'emploi de substances passant dans un tamis de 100 à 200 mailles est basé sur l'observation selon laquelle les matières contenant de fines particules ont tendance à laisser passer le DDT à partir d'une solution de n-hexane ; le pourcentage de DDT est donc faible à l'élution ultérieure à l'éther éthylique. Cette méthode auxiliaire de purification s'est révélée particulièrement nécessaire pour les matières grasses.) Rincer l'évaporateur avec une petite quantité d'éther de pétrole léger ou de n-hexane, détacher le flacon de 25 ml et transvaser son contenu dans le tube préparé avec quelques millilitres d'éther de pétrole léger ou de n-hexane. Lorsque le gel de silice a été percolé, laver la colonne avec quatre fractions successives de 15 ml d'éther de pétrole léger ou de n-hexane. Jeter les fractions de lavage, et égoutter complètement la colonne par application d'air comprimé à l'orifice du tube. Éluer le DDT en lavant la colonne avec 4 fractions successives de 15 ml d'éther éthylique. Ajouter 2 gouttes de propylène-glycol à la solution d'éther, et réduire le volume à quelques millilitres dans l'évaporateur. Enlever le reste de solvant à 40° C au moyen d'un courant d'air sec, et placer enfin le flacon au-dessus d'un bain de vapeur pendant 30 minutes. (On a observé que cette méthode contribuait à réduire les " valeurs à blanc " qui sans cela sont élevées pour certains produits ; aucune perte de DDT n'est observée à ce stade lorsque le propylène-glycol est ajouté selon la méthode qui vient d'être décrite.)

## NITRATION ET EXTRACTION DU TETRANITRO-DDT

Ajouter au résidu 2 ml de mélange nitrant, remuer le mélange, placer le flacon sur un bain de vapeur pendant 30 minutes, puis refroidir. (La détermination peut être interrompue à ce stade.) Transvaser le contenu du flacon dans une ampoule à décanter contenant environ 25 ml d'eau, rincer le flacon avec environ 25 ml d'eau, puis 10 ml d'acétone au maximum, et ajouter les fractions de rinçage au contenu de l'ampoule à décanter. Au moyen d'une pipette, ajouter 25 ml de solvant d'extraction et secouer vigoureusement l'ampoule bouchée pendant 1 minute. Laisser décanter, et écarter la couche aqueuse. Ajouter 10 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 5 % p/v, et agiter pendant 30 secondes. Laisser décanter, jeter la couche aqueuse, et répéter le lavage avec des portions de 10 ml d'alcali jusqu'à ce que les liquides de lavage soient pratiquement décolorés (en général 3 lavages suffisent). Soutirer la dernière couche alcaline, ajouter environ 20 ml de solution de chlorure de sodium saturée, agiter vigoureusement, laisser décanter et écarter la couche aqueuse.

## DÉVELOPPEMENT DE LA TEINTE ET MESURE

Au moyen d'une pipette, faire passer une partie aliquote appropriée (contenant de 10 à 100 μg de DDT) de la solution de l'ampoule à décanter dans un flacon à tare ou un tube à essai convenable. Laisser évaporer complètement à 40° C dans un courant d'air sec. Placer le flacon 30 minutes au-dessus d'un bain de vapeur, refroidir, puis dissoudre le résidu dans 1 ml de benzène (ajouté à la pipette de manière à rincer les parois du flacon). Ajouter 5 ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, agiter en tournant pour mélanger, reboucher, attendre 4 minutes que la coloration bleue se produise, et mesurer la densité optique de la solution dans une cellule de 1 cm à 600 mμ ; employer une cellule analogue remplie d'eau comme référence pour la densité optique zéro. Lorsque la coloration définitive présente un aspect brun ou rougeâtre, il convient de répéter la détermination en prenant soin d'observer strictement les indications ci-dessus.

## CLEAN-UP PROCEDURE

Place 4 g of Celite 545 in the chromatographic tube, add 8 g of Celite 545 thoroughly mixed with 4 ml of sulphuric acid mixture, pack firmly and uniformly, and finally add a 1-cm layer of anhydrous sodium sulphate. Fill with *n*-hexane, and allow to drain. To the extract obtained as described above under " Extraction of DDT " add 40 ml, unless otherwise indicated, of sulphuric acid mixture in several portions, and swirl the contents of the flask vigourously for about 30 seconds after each addition. If much heat is generated, allow suitable intervals for cooling after each addition of acid mixture. After the final addition of acid mixture, set the flask aside for not less than 30 minutes to allow separation, and then decant the organic layer into the prepared chromatographic tube. When the column has drained, wash the acid mixture in the flask with three successive 75-ml portions of *n*-hexane. For each washing, swirl the contents of the flask vigorously for about 30 seconds, and, after setting aside for at least 15 minutes to allow separation, decant the organic layer into the chromatographic tube. (If emulsification causes slow separation, it is sometimes advantageous to add one or two 5-ml portions of *n*-amyl or *iso*amyl alcohol to the liquid and, if necessary, to allow the final separation to take place overnight; the determination may be interrupted at this stage.) Collect the combined drainings from the column in the evaporator, and reduce the volume of solvent to a few millilitres by heating on a steam-bath.

Stir 8 g of silica gel into a thin slurry with light petroleum or *n*-hexane, and rinse the slurry with more solvent into the glass tube containing the cotton-wool plug. (The use of 100- to 200-mesh material is based on the finding that material containing " fines " tends to pass DDT from a *n*-hexane solution, with the result that recoveries are low in the subsequent elution with diethyl ether. This auxiliary clean-up procedure has been found to be specially necessary for fatty materials.) Rinse the evaporator with a small amount of light petroleum or *n*-hexane, detach the 25-ml flask, and transfer its contents to the prepared tube with a few millilitres of light petroleum or *n*-hexane. When the silica gel has drained, wash the column with four successive 15-ml portions of light petroleum or *n*-hexane. Reject the washings, and drain the column thoroughly by applying air pressure to the top of the tube. Elute the DDT by washing the column with four successive 15-ml portions of diethyl ether. Add 2 drops of propylene glycol to the ether solution, and reduce the volume to a few millilitres in the evaporator. Remove the remaining solvent at 40° C by means of a current of dry air, and finally stand the flask on a steam-bath for 30 minutes. (It has been found that this procedure helps to reduce the blank value, which, with some commodities, is otherwise high; no loss of DDT is experienced at this stage if propylene glycol is added as described.)

## NITRATION AND EXTRACTION OF TETRANITRO-DDT

To the residue add 2 ml of nitration acid, swirl the mixture, transfer the flask to a steam-bath for 30 minutes, and then cool. (The determination may be interrupted at this stage.) Pour the contents of the flask into a separating funnel containing about 25 ml of water, rinse the flask with about 25 ml of water and then with not more than 10 ml of acetone, and add the rinsings to the contents of the separating funnel. By pipette, add 25 ml of extraction solvent, and shake the stoppered funnel vigorously for 1 minute. Allow to separate, and discard the aqueous layer. Add 10 ml of 5 per cent. w/v sodium hydroxide solution, and shake for 30 seconds. Allow to separate, discard the aqueous layer, and repeat the washing with 10-ml portions of alkali until the washings are virtually colourless (three washings are normally sufficient). Drain off the final alkaline layer, add about 20 ml of saturated sodium chloride solution, shake vigorously, allow to separate, and reject the aqueous layer.

## COLOUR DEVELOPMENT AND MEASUREMENT

By pipette, place a suitable aliquot (containing between 10 and 100 μg of DDT) of the solution from the separating funnel in a weighing bottle or suitable test-tube, and evaporate to dryness at 40° C by means of a current of dry air. Stand the bottle on a steam-bath for 30 minutes, cool, and dissolve the residue in 1 ml of benzene (added by pipette in such a way as to wash down the sides of the bottle). Add 5 ml of ethanolic potassium hydroxide solution, with swirling to mix, replace the stopper, allow the blue colour to develop for 4 minutes, and measure the optical density of the solution in a 1-cm cell at 600 mμ; use a similar cell filled with water as a standard of zero optical density. If the final colour has a brown or reddish appearance, the determination should be repeated ensuring that the conditions described above are strictly adhered to.

### ÉTABLISSEMENT D'UNE COURBE STANDARD

Préparer une solution d'éther de pétrole léger ou de n-hexane contenant 40 µg de *pp'* - DDT par ml. Au moyen d'une pipette, introduire 1 ml de cette solution dans un flacon de 25 ml, ajouter 2 gouttes de propylène glycol, faire évaporer le solvant à 40° C dans un courant d'air sec, et placer enfin le flacon au-dessus d'un bain de vapeur pendant 30 minutes. Procéder à la nitration et à l'extraction comme indiqué ci-dessus. Au moyen d'une pipette, prélever une partie aliquote de 5 ml de la solution nitrée de DDT dans l'ampoule à décanter et procéder aux essais de coloration et à leur mesure. Procéder de même avec d'autres parties aliquotes (jusqu'à 10 ml) de la solution originale de DDT, et tracer la courbe des densités optiques des parties aliquotes par rapport aux microgrammes de *pp'* - DDT présents. On doit obtenir une densité optique d'environ 0,120 pour 10 µg de *pp'* - DDT.

## ANNEXE II

### *Méthodes de purification de l'éther de pétrole léger et du n-hexane*

### MÉTHODE A

Dans un flacon de 5 litres muni d'un agitateur de verre, et contenant 3 litres d'éther de pétrole léger ou de n-hexane, ajouter lentement 150 ml d'acide sulfurique fumant contenant 20% d'anhydride sulfurique et remuer vigoureusement pendant 1 heure. Transvaser dans une ampoule à décanter de 5 litres, enlever la couche acide, et reverser l'éther de pétrole dans le flacon. Répéter cette opération jusqu'à ce que la couche acide reste incolore ou pratiquement incolore (il faut en général 3 ou 4 sulfonations pour obtenir ce résultat).

Ajouter 100 ml de l'acide sulfurique fumant, puis 80 ml d'acide nitrique, poids spécifique 1,42 ; remuer pendant 1 heure, transvaser dans l'ampoule à décanter de 5 litres, et écarter la couche acide. Recommencer l'opération si la couche acide fonce (deux fois suffisent habituellement). Laver l'éther de pétrole léger successivement avec trois fractions de 400 ml d'eau distillée, une fois avec une solution de bicarbonate de sodium à 2 % ou d'hydroxyde de sodium, puis une fois encore à l'eau distillée. Sécher au sulfate anhydre de sodium.

Distiller l'éther de pétrole avec environ 10 g de chlorure de calcium fondu (de préparation récente) ; fractionner sur une colonne de distillation convenable, et retenir les produits de cœur, à l'exclusion des 200 ml de tête et de queue. Il n'est pas souhaitable de distiller sur sodium, à moins de séparer avec grand soin le sodium de l'huile dans laquelle il est habituellement conservé.

### MÉTHODE B

Placer 800 g de gel de silice passé au tamis de 30 mailles (normes britaniques) dans un tube à chromatographie de 5 cm de diamètre et d'environ 1 m de long. Passer l'éther de pétrole léger ou le n-hexane dans la colonne par quantités n'excédant pas 2 litres. La colonne peut être réactivée par le passage de 500 ml d'acétone après séchage à l'air du gel de silice et chauffage à 250° pendant 2 heures.

## PREPARATION OF STANDARD GRAPH

Prepare a light petroleum or *n*-hexane solution containing 40 μg of *pp'*-DDT per ml. By pipette, place 1 ml of this solution in a 25-ml flask, add 2 drops of propylene glycol, evaporate the solvent at 40° C by means of a current of dry air, and finally stand the flask on a steam-bath for 30 minutes. Proceed with nitration and extraction as described above. By pipette, take a 5-ml aliquot of the nitrated DDT solution from the separating funnel and carry out the colour development and measurement. Proceed similarly with further aliquots (up to 10 ml) of the original DDT solution, and plot a graph of optical densities of the aliquots against micrograms of *pp'*-DDT present. An optical density of about 0,120 per 10 μg of *pp'*-DDT should be obtained.

# APPENDIX II

## *Methods for Purification of Light Petroleum and n-Hexane*

### METHOD A

To 3 litres of light petroleum or *n*-hexane in a 5-litre flask fitted with a glass stirrer, slowly add 150 ml of fuming sulphuric acid containing 20 per cent. of sulphur trioxide, and stir vigorously for 1 hour. Transfer to a 5-litre separating funnel, discard the acid layer, and return the light petroleum to the flask. Repeat until the acid layer remains colourless or almost so (three or four sulphonations are usually required.)

Add 100 ml of the fuming sulphuric acid and then 80 ml of nitric acid, sp.gr. 1,42, stir for 1 hour, transfer to the 5-litre separating funnel, and discard the acid layer. Repeat the procedure if the acid layer darkens (twice is usually sufficient). Wash the light petroleum successively with three 400-ml portions of distilled water, once with a 2 per cent. solution of sodium hydrogen carbonate or sodium hydroxide and then once again with distilled water. Dry by treatment with anhydrous sodium sulphate.

Distil the light petroleum with about 10 g of freshly fused calcium chloride, fractionate through any suitable column, and collect the required fraction, rejecting the first and the last 200-ml portions. Fractionation with metallic sodium is not desirable, unless great care is taken to remove from the sodium the oil in which it is usually stored.

### METHOD B

Place 800 g of silica gel that has been sifted through a 30-mesh B.S. sieve in a chromatographic tube 5 cm in bore and approximately 1 metre in length. Pass the light petroleum or *n*-hexane through the column in batches of not more than 2 litres. The column can be re-activated by passing 500 ml of acetone through it after the silica gel has been dried in air and heated at 250° C for 2 hours.

HEMMERLÉ, PETIT & Cie
2, 4 et 4 *bis*, rue de Damiette
PARIS-2e
436-4-61

## Publications de l'OEPP

### RAPPORTS DES GROUPES DE TRAVAIL ET CONFÉRENCES TECHNIQUES

*Mesures de contrôle phytosanitaire.* 1951. 16 p.
*Séances techniques (1re réunion du Conseil).* 1951. 44 p.
*Ennemis non encore introduits en Europe.* 1951. 12 p.
*Ennemis récemment introduits en Europe.* 1952. 20 p.
*Ennemis des agrumes et des autres cultures méditerranéennes.* 1952. 24 p.
*Écaille fileuse* (Hyphantria cunea) :
- *1re Conf. intern. (Vienne).* 1952. 12 p.
- *2e Conf. intern. (Vienne).* 1952. 24 p.
- *3e Conf. intern. (Vienne).* 1954. 20 p.
- *4e Conf. intern. (Belgrade).* 1957. 36 p.

*Conservation des denrées alimentaires en magasin :*
- *1er Rapport (Bruxelles).* 1953. 44 p. *
- *2e Rapport (Springforbi).* 1958. 40 p.

*Anguillule des racines.* 1955. 20 p.
*Pou de San José.* 1955. 20 p.
*Tristeza et xyloporose.* 1956. 28 p.
Laspeyresia molesta, etc. 1958. 16 p.
*Lutte contre le rat musqué :*
- *3e Conf. intern. (Munich).* 1953. 16 p.
- *4e Conf. intern. (Gembloux).* 1955. 20 p.
- *5e Conf. intern. (Luxembourg).* 1957. 16 p.

*Mouche méditerranéenne des fruits :*
- *1re Conf. intern. (Alger).* 1954. 28 p.
- *2e Conf. intern. (Bonn).* 1957. 68 p.

*Maladies transmises par les semences :*
- *1er Gr. de travail (cultures tempérées).* 1954. 32 p.
- *2e Gr. de travail (cultures tropicales).* 1959. 20 p.

*Réglementation phytosanitaire :*
- *1er Rapport (Paris).* 1955. 48 p.
- *2e Rapp. (Rome-Wageningen).* 1957. 28 p.
- *3e Rapport (Bad Godesberg).* 1959. 24 p.

*Mammifères nuisibles.* 1959. 76 p.
*Rôle des pesticides.* 1959. 20 p.
*Nouvelles races de* Synchytrium endobioticum. 1960. 16 p.
*Viroses des citrus.* 1960. 104 p.
*Analyse des résidus de pesticides.* 1961. 24 p.

*PLANCHES EN COULEURS : Ennemis non encore signalés ou peu répandus.*

### RAPPORTS SUR LA SITUATION EN EUROPE

*Doryphore* (Leptinotarsa decemlineata) : *1949,'50,'51,*'52, '53,'54,'55,'56,'57,'58,'59.*
*Anguillule des racines de la pomme de terre* (Heterodera rostochiensis) : *1953, '54, '55, '56, '57, '58, '59.*
*Rongeurs parasites des cultures : 1953-1954.*
*Pou de San José* (Quadraspidiotus pernicios is) : *1953, '54 '55, '56, '57, '58, '59.*
*Maladie verruqueuse de la pomme de terre* (Synchytrium endobioticum) : *1953, '54, '55, '56, '57, '58, '59.*
*Ennemis et maladies des denrées stockées : 1953-54, 1955-57*

### VIE DE L'ORGANISATION

*Convention du 18 avril 1951 pour l'établissement de l'OEPP.* 1955 (2e éd.). 24 p.
*Rapports annuels : 1951, 1952, 1953-54, 1954-55, 1955-56, 1956-57, 1957-58, 1958-59, 1959-60.*

*** Publié en deux éditions distinctes, française et anglaise. Toutes les autres publications citées sont bilingues.**

---

## EPPO Publications

### REPORTS OF TECHNICAL WORKING PARTIES AND CONFERENCES

*Quarantine restrictions.* 1951. 16 p.
*Technical discussions at 1st Council meeting.* 1951. 44 p.
*Pests and diseases which might be introduced into Europe.* 1951. 12 p.
*Pests and diseases recently introduced into Europe.* 1952. 20 p.
*Pests and diseases of citrus and other Mediterranean crops.* 1952. 24 p.
*Fall webworm* (Hyphantria cunea) :
- *1st Intern. Conf. (Vienna).* 1952. 12 p.
- *2nd Intern. Conf. (Vienna).* 1952. 24 p.
- *3rd Intern. Conf. (Vienna).* 1954. 20 p.
- *4th Intern. Conf. (Belgrade).* 1957. 36 p.

*Protection of foodstuffs in store :*
- *1st Report (Brussels).* 1953. 44 p. *
- *2nd Report (Springforbi).* 1958. 40 p.

*Potato root eelworm.* 1955. 20 p.
*San José scale.* 1955. 20 p.
*Tristeza and xyloporosis.* 1956. 28 p.
*Oriental fruit moth,* etc. 1958. 16 p.
*Muskrat control :*
- *3rd Intern. Conf. (Munich).* 1953. 16 p.
- *4th Intern. Conf. (Gembloux).* 1955. 20 p.
- *5th Intern. Conf. (Luxembourg).* 1957. 16 p.

*Mediterranean fruit fly :*
- *1st Intern. Conf. (Algiers).* 1954. 28 p.
- *2nd Intern. Conf. (Bonn).* 1957. 68 p.

*Seed-borne diseases :*
- *1st Working Party (temperate crops).* 1954. 32 p.
- *2nd Working Party (sub-tropical crops).* 1959. 20 p.

*Phytosanitary regulations :*
- *1st Report (Paris).* 1955. 48 p.
- *2nd Rep. (Rome-Wageningen).* 1957. 28 p.
- *3rd Report (Bad Godesberg).* 1959. 24 p.

*Harmful mammals.* 1959. 76 p.
*Crop production pesticides.* 1959. 20 p.
*Potato wart disease races.* 1960. 16 p.
*Virus diseases of citrus.* 1960. 104 p.
*Pesticide Residue Analysis.* 1961. 24 p.

*COLOUR PLATES : Pests and diseases not yet or only locally reported.*

### SURVEYS OF THE POSITION IN EUROPE

*Colorado beetle* (Leptinotarsa decemlineata) : *1949, '50, '51,*'52,'53,'54,'55,'56,'57,'58,'59.*
*Potato root eelworm* (Heterodera rostochiensis) : *1953, '54, '55, '56, '57, '58, '59.*
*Field rodents : 1953-1954.*
*San José scale* (Quadraspidiotus perniciosus) : *1953, '54, '55, '56, '57, '58, '59.*
*Potato wart disease* (Synchytrium endobioticum) : *1953, '54, '55, '56, '57, '58, '59.*
*Pests and diseases of foodstuffs in store : 1953-54, 1955-57.*

### ORGANISATION

*Convention of April 18, 1951 for the establishment of EPPO.* 1955 (2nd ed.). 24 p.
*Annual Reports : 1951, 1952, 1953-54, 1954-55, 1955-56, 1956-57, 1957-58, 1958-59, 1959-60.*

*** Published in separate English and French editions. All other publications listed are in both languages.**

---

*Prix : 2,00 NFF.*